anses
alimentation, environnement, travail

LE DIRECTEUR GENERAL

Maisons-Alfort, le 13 AOUT 2014

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la demande d'homologation de la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42, à base de *Bacillus amyloliquefaciens*, de la société Andermatt Biocontrol GmbH

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a notamment pour mission l'évaluation des dossiers de matières fertilisantes et supports de culture.
Les avis formulés par l'Agence comprennent :
- *l'évaluation des risques sanitaires que l'utilisation de ces produits peut présenter pour l'homme, l'animal ou l'environnement ;*
- *l'évaluation de leur efficacité sur les végétaux ainsi que celle de leurs autres bénéfices éventuels ;*
- *une synthèse de ces évaluations assortie de recommandations portant notamment sur leurs conditions d'emploi.*

PRESENTATION DE LA DEMANDE

L'Agence a accusé réception d'une demande d'homologation au titre des matières fertilisantes de l'inoculum bactérien RHIZOVITAL 42 de la société Andermatt Biocontrol GmbH, pour laquelle, conformément à l'article R.255-1-1 du Code rural et de la pêche maritime, l'avis de l'Anses est requis.

Le demandeur déclare que la préparation RHIZOVITAL 42 est autorisée à la vente en Autriche sur simple enregistrement, en tant que "stimulateur du sol", conformément aux prescriptions de la section 9a de l'acte relatif au commerce des engrais (Düngemittelgesetz 1994 - DMG 1994, BGBl. N° 513/1994 id.g.F.).

La demande d'homologation est présentée dans le cadre de l'alinéa 3 de l'article R.255-1-1 du Code rural et de la pêche maritime. La copie du certificat d'enregistrement autrichien officiel daté du 22 février 2011, ainsi que sa traduction, ont été communiquées à l'Anses. En revanche, les documents relatifs à l'évaluation du produit préalablement à sa mise sur le marché dans l'Etat membre d'origine n'ont pas été communiqués.

En conséquence, la présente demande d'homologation pour le produit RHIZOVITAL 42 a été évaluée par l'Anses sur la base des informations et des études communiquées par le pétitionnaire dans le cadre de la présente demande de mise sur le marché en France.

La préparation bactérienne RHIZOVITAL 42 est destinée à la stimulation de la croissance des plantes et du développement racinaire, à l'augmentation du rendement ainsi qu'à la résistance au stress abiotique. L'autorisation autrichienne ne faisant pas référence à la résistance au stress abiotique, cette revendication n'est pas retenue dans le cadre de la présente demande de mise sur le marché en France.

Le présent avis porte sur la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42, une culture de *Bacillus amyloliquefaciens*, sous-espèce *plantarum*, souche FZB 42, additionnée d'un additif technologique (conservateur). La souche FZB 42 est une souche naturelle isolée d'un sol allemand.

Cet avis est fondé sur l'évaluation par l'Agence du dossier déposé à l'Anses pour cette préparation microbienne, conformément aux exigences du Code rural et de la pêche maritime, de l'arrêté du 21 décembre 1998 et du guide pour l'homologation des Matières Fertilisantes et Supports de Culture (document cerfa 50644#01) et sous réserve de l'utilisation du produit dans le respect des bonnes pratiques agricoles (BPA).

SYNTHESE DE L'EVALUATION

L'avis présente une synthèse des éléments scientifiques essentiels qui conduisent aux recommandations émises par l'Agence et n'a pas pour objet de retracer de façon exhaustive les travaux d'évaluation menés par l'Agence.

Après évaluation de la demande, réalisée par la Direction des Produits Réglementés avec l'accord d'un groupe d'experts du Comité d'experts spécialisé "Matières Fertilisantes et Supports de Culture" et après consultation du Comité d'experts spécialisé "Matières Fertilisantes et Supports de Culture", réuni le 12 juin 2014, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet l'avis suivant.

CONSIDERANT L'IDENTITE DE LA PREPARATION BACTERIENNE

Les caractéristiques garanties pour l'inoculum RHIZOVITAL 42 sont les suivantes :

Caractéristiques	Valeurs garanties selon la déclaration du pétitionnaire
Genre, espèce, souche	*Bacillus amyloliquefaciens*, sous-espèce *plantarum*, souche FZB 42 (DSMZ n° 23117)
Nombre de spores	minimum $2,5.10^{10}$ par mL
pH	6,5 - 7

La préparation bactérienne RHIZOVITAL 42 est proposée pour une utilisation en traitement de semences, trempage, arrosage ou pulvérisation sur la surface du sol, ainsi qu'en incorporation au système d'irrigation. Par ailleurs, le demandeur recommande l'application du produit au plus proche des racines.

Le produit se présente sous forme d'une suspension, à diluer avant application.

Usages et conditions d'emploi demandés (formulaire cerfa 11385 de janvier 2014) :

Cultures*	Dose par apport (en mL d'inoculum.ha^{-1})		Nombre de germes (par ha)		Nombre d'apports par an		Epoques d'apport
	minimale	maximale	minimal	maximal	minimal	maximal	
Grandes cultures	100	1000	$2,5.10^{12}$	$2,5.10^{13}$	1	3	Semis Plantation Emergence
Cultures maraîchères	500	2000	$1,25.10^{13}$	5.10^{13}			
Pépinières	500	1000	$1,25.10^{13}$	$2,5.10^{13}$			
Cultures ornementales	1000	2000	$2,5.10^{13}$	5.10^{13}			
Pelouse							

* le champ d'application du produit, selon l'autorisation autrichienne, concerne l'agriculture et l'horticulture

La dose maximale d'apport prise en compte pour l'évaluation de l'innocuité du produit est de 6 kg par hectare et par an (densité de la suspension = 1).

CONSIDERANT LE MODE DE FABRICATION DE LA PREPARATION BACTERIENNE ET LA QUALITE DE LA PRODUCTION

Caractérisation de la préparation bactérienne et procédé de fabrication

Les spécifications de la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42 telles que décrites sur le formulaire cerfa 11385 (arrêté du 21/12/98, annexe I) et la fiche d'information sont conformes aux exigences réglementaires.

La souche FZB 42 est une souche naturelle isolée d'un sol allemand, déposée et conservée en banque de collection en Allemagne (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zelkulturen - DSMZ) sous le numéro 23117. La souche est enregistrée en Autriche sous la référence DSM ID 03-1506. Le demandeur déclare que la souche est non pathogène, non phytotoxique et n'est pas manipulée génétiquement.

Le procédé de fabrication repose sur la culture de bactéries en fermenteur, avec l'ajout d'un conservateur en fin de procédé. Chaque lot de commercialisation correspond à 500 mL de culture bactérienne en suspension.

Le système de management de la qualité de la fabrication et de la traçabilité des matières premières et des lots de production est considéré comme satisfaisant. Le maintien de la souche en banque de collection permet un contrôle régulier et la vérification de l'absence de dérive génétique au cours du temps. L'analyse des préparations bactériennes avant commercialisation porte sur leur richesse en spores de *Bacillus* et leur pureté microbiologique (absence de contaminants décelables).

Les attestations croisées de fourniture et d'approvisionnement sont présentées de manière exhaustive pour ce qui concerne les sources de matières premières indiquées dans le dossier technique pour lesquelles ces documents sont requis. Toute autre provenance correspondrait à un changement de composition et nécessiterait une évaluation complémentaire.

Par ailleurs, la fiche technique du conservateur ajouté au milieu de culture a été communiquée.

Les matières premières, ainsi que le procédé de fabrication, ne présentent pas de dangers physico-chimiques particuliers.

Constance de composition de la préparation bactérienne

L'étude de l'homogénéité de la préparation RHIZOVITAL 42 n'est pas nécessaire : il s'agit d'une culture bactérienne en suspension.

Par ailleurs, la constance de composition de la préparation bactérienne relative à sa richesse en spores est convenablement établie pour l'invariance. Les lots analysés présentent une richesse en *Bacillus amyloliquefaciens* supérieure à la teneur garantie (minimum $2{,}5.10^{10}$ par mL). Toutefois, seuls deux lots ont été analysés. Aussi, l'étude d'invariance devra être complétée par l'analyse de lots supplémentaires.

En revanche, aucune étude de stabilité n'est présentée dans le cadre de la présente demande. La fiche d'information du produit précise une durée de conservation minimale de deux ans à température ambiante (20 - 25°C), dans un environnement frais et sec et à l'abri de la lumière directe du soleil. Il est également recommandé d'éviter les températures supérieures à 30°C. Cette durée de stockage est considérée comme acceptable. Néanmoins, la stabilité de la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42 sur une période de deux ans devra être confirmée par la mise en place d'une étude en conditions de stockage préconisées.

Méthodes d'échantillonnage et d'analyse

Les méthodes d'échantillonnage (constitution des échantillons et mode de prélèvement) en vue des analyses et essais du présent dossier ne sont pas décrites. Cette absence de description est néanmoins considérée comme non préjudiciable dans le cas de la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42.

L'analyse de caractérisation a été effectuée par un laboratoire allemand (AZBA), accrédité conformément au système d'accréditation allemand de contrôle (DAP).

La souche *Bacillus amyloliquefaciens* sous-espèce *plantarum* FZB 42 présente dans la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42 est différenciée selon la méthode d'identification moléculaire basée sur le séquençage du gène qui code la gyrase A (*gyrA*). Cette méthode d'identification est publiée (Borriss *et al.*, 2011).

Il est rappelé que, aux écarts admissibles près, la conformité de chaque unité de commercialisation du produit aux teneurs garanties sur l'étiquette est requise et que ces écarts admissibles ne peuvent pas être exploités de manière systématique.

CONSIDERANT LES INFORMATIONS RELATIVES A L'INNOCUITE DE LA PREPARATION BACTERIENNE

Matières premières et procédé de fabrication

En l'état actuel des connaissances, l'espèce *Bacillus amyloliquefaciens*, n'apparaît pas pathogène pour l'homme, l'animal ou l'environnement. Elle n'est pas inscrite sur la liste à l'annexe III de la directive 2000/54/CE du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail, et certaines de ses souches font l'objet d'une utilisation en alimentation animale. Il s'agit d'une espèce bénéficiant du statut de présomption d'innocuité reconnue QPS (Qualified Presumption of Safety), tel qu'établi par le comité scientifique de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA).

Par ailleurs, aucune information relative au potentiel transfert de gène de résistance aux antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire n'a été communiquée. Cette problématique est en cours de discussion au niveau européen. Aussi, des données complémentaires pourront être demandées dès lors qu'un principe d'évaluation aura été finalisé et adopté.

Le conservateur ajouté au milieu de culture bactérienne ne fait l'objet d'aucun classement toxicologique réglementaire au niveau européen (Règlement (CE) n° 1272/2008[1]). Il s'agit d'un composant principalement utilisé comme additif alimentaire.

Etude toxicologique de la préparation

Les teneurs en éléments traces métalliques (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, Zn) permettent de respecter les critères d'innocuité pour l'homologation des matières fertilisantes dans les conditions d'emploi préconisées.

Les teneurs en composés traces organiques (fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène et 7 PCBs) n'ont pas été déterminées. Toutefois, compte tenu des matières premières et du procédé de fabrication du produit, l'analyse de ces micropolluants n'est pas considérée comme nécessaire.

Bien que les analyses de contrôles communiquées montrent une qualité microbiologique de la préparation RHIZOVITAL 42 jugée satisfaisante au regard des contaminants *E.coli*, bactéries coliformes, *Pseudomonas* et levures et moisissures, ces données ne couvrent pas l'ensemble des critères microbiologiques requis dans le cadre de l'homologation des matières fertilisantes[2] en France.

Par conséquent, le produit RHIZOVITAL 42 devra être contrôlé sur l'ensemble des indicateurs microbiologiques spécifiés pour ce type de produit dans le guide pour l'homologation afin de pouvoir écarter systématiquement les lots non-conformes aux valeurs de référence pour l'homologation des matières fertilisantes.

Les essais de toxicologie réalisés sur le produit RHIZOVITAL 42 n'ont conduit à aucune mortalité et n'ont pas révélé de potentiel pathogène ou infectieux de la souche suite à l'administration unique du produit par voie orale, intra-trachéale et intra-veineuse chez le rat.

[1] Règlement du Parlement Européen et du Conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges.
[2] Guide pour la constitution des dossiers de demande d'homologation matières fertilisantes - supports de culture. Formulaire cerfa n° 50644#01.

La toxicité aiguë cutanée a également été testée chez le rat et n'a pas entraîné de mortalité à la dose testée (5000 $mg.kg^{-1}$).

Les études d'irritation mises en œuvre sur le lapin n'ont montré aucun effet irritant cutané et oculaire.

En outre, le producteur du produit RHIZOVITAL 42 atteste qu'il a été utilisé pendant plus de 10 ans en agriculture et en horticulture sans qu'aucun problème toxicologique n'ait été rapporté.

Au sens du Règlement (CE) n° 1272/2008, aucune classification toxicologique n'est requise pour la préparation bactérienne. Néanmoins, s'agissant d'un produit à base de microorganismes, la phrase de précaution « Contient *Bacillus amyloliquefaciens*. Les microorganismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation » devra être mentionnée sur l'étiquette.

Par ailleurs, un masque anti-aérosol (EN149 FFP3 ou équivalent), des gants et un vêtement de protection devront être portés lors de la manipulation du produit.

Résidus et sécurité du consommateur

Compte tenu de la nature de la matière fertilisante RHIZOVITAL 42 et des usages revendiqués, il n'est pas attendu de risque pour le consommateur.

Devenir dans l'environnement et écotoxicité de la préparation bactérienne

Milieu aquatique

Aucune toxicité aiguë du produit RHIZOVITAL 42 n'a été observée sur poisson ou sur daphnies (CL_{50}-96h[3] > 100 $mg.L^{-1}$ et CE_{50}-48h[4] > 100 $mg.L^{-1}$ respectivement ; NOEC[5] = 100 $mg.L^{-1}$) (soit 4,31 x 10^9 $ufc^6.L^{-1}$).

La classification environnementale proposée pour la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42, au sens du Règlement (CE) n° 1272/2008, est « non classé ».

Une concentration prévisible dans l'eau (PECsw) de 160,4 µg de produit par L (4,0 x 10^6 $ufc.L^{-1}$) a été calculée en considérant la dose d'apport annuelle maximale revendiquée de 6000 g par ha. La comparaison des valeurs de CE_{50}-96h et CL_{50}-72h aux concentrations attendues dans le milieu aquatique (PEC)[7] permet de conclure qu'aucun effet néfaste à court terme n'est attendu pour les organismes aquatiques suite à l'apport du produit RHIZOVITAL 42 (ratio toxicité sur exposition supérieur à 100).

Faune sauvage

Une étude de toxicité orale du produit RHIZOVITAL 42 vis-à-vis du colin de Virginie a été réalisée. La LD_{50} est supérieure à 2000 $mg.kg^{-1}$ pc. La NOEL[8] est de 2000 $mg.kg^{-1}$ pc.

Une évaluation a été conduite pour les cultures maraîchères, considérées comme un "pire cas" d'exposition. Le risque aigu vis-à-vis des oiseaux est considéré comme acceptable pour 3 applications via arrosage ou pulvérisation de 2 $L.ha^{-1}$ avec un intervalle minimal de 4 semaines entre les applications (ratio toxicité sur exposition supérieur à 10).

[3] CL_{50}-96h = concentration produisant 50% de mortalité après 96h d'exposition
[4] CE_{50}-48h = concentration produisant 50% d'effet après 48h d'exposition
[5] NOEC = concentration sans effet observé
[6] ufc = unités formant colonie
[7] PEC = Predicted Environmental Concentration (Concentration prévisible dans l'environnement), ici basé sur une approche conservatrice considérant une application directe dans un plan d'eau d'une surface d'un hectare et d'une profondeur de 30 cm.
[8] NOEL = dose sans effet observé

CONSIDERANT LES INFORMATIONS RELATIVES A L'EFFICACITE DE LA PREPARATION BACTERIENNE

Caractéristiques biologiques de la préparation bactérienne

Effets revendiqués

Les effets agronomiques revendiqués pour la préparation RHIZOVITAL 42 concernent la stimulation de la croissance des plantes et du développement racinaire, l'augmentation du rendement ainsi que la résistance au stress abiotique (formulaire cerfa 11385 de janvier 2014).

Par ailleurs, le projet d'étiquette proposé pour la préparation RHIZOVITAL 42 dans le cadre de la présente demande d'homologation en France indique une utilisation en traitement de sol, de semences ou de plantes ainsi que des effets sur l'augmentation du rendement des cultures, la stimulation de la croissance racinaire, la mobilisation des éléments nutritifs et un effet probiotique par occupation de la rhizosphère.

En Autriche, la préparation RHIZOVITAL 42 est autorisée à la vente en tant que "stimulateur du sol", pour des applications en agriculture et horticulture. L'autorisation autrichienne ne faisant pas référence à la résistance au stress abiotique, cette revendication n'est pas retenue.

Eléments relatifs à l'efficacité intrinsèque et au mode d'action

Les effets de la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42 sont basés sur l'activité de la bactérie du genre *Bacillus amyloliquefaciens*, qui fait partie des souches bactériennes PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), reconnues pour promouvoir le développement racinaire, la croissance et le rendement des plantes en colonisant leur système racinaire.

Par ailleurs, les actions de promotion de la croissance des végétaux par des souches de *Bacillus* sont documentées dans de nombreuses publications scientifiques.

Les modalités d'action des *Bacillus* sont des phénomènes complexes, non encore totalement élucidés, faisant intervenir des mécanismes d'action directs et indirects de synthèse de métabolites, d'induction enzymatique, de solubilisation du phosphore, d'activation de réaction de défense, etc. Le demandeur indique qu'une activité phytase et une production d'auxines ont été attribuées spécifiquement à la souche FBZ 42 dans la bibliographie.

Dans le cadre de la présente demande d'homologation en France, le pétitionnaire présente une synthèse bibliographique de 17 articles ou compte-rendu scientifiques relatifs aux effets de la souche *Bacillus amyloliquefaciens* FZB 42 constituant le produit RHIZOVITAL 42. Ainsi, le demandeur liste les effets rapportés sur une diversité de cultures suite à l'application de la souche *Bacillus amyloliquefaciens* FZB 42 selon différentes modalités (enrobage de semences, trempage, pulvérisation à la surface du sol) :

* augmentation de la germination (pomme de terre) ;
* augmentation de la croissance du système racinaire (coton, maïs) ;
* augmentation de la croissance du système aérien (chou, chou chinois, concombre, maïs, soja) ;
* augmentation du rendement (chou, chou chinois, colza, laitue, maïs, pomme de terre, soja, tomate) ;
* augmentation du poids de mille grains (maïs).

L'analyse critique des références bibliographiques décrivant les effets de la souche *Bacillus amyloliquefaciens* FZB 42 constituant le produit RHIZOVITAL 42 révèle des effets significatifs de la bactérie sur la croissance aérienne et racinaire du concombre ainsi que sur le rendement de la laitue. Plusieurs autres essais conduits sur coton, maïs, pomme de terre, soja, colza et chou, soit montrent des effets non significatifs sur la croissance et/ou le rendement, soit ne présentent pas d'analyse statistique des résultats.

Essais d'efficacité

Le demandeur ne présente ni test d'efficacité mis en œuvre en conditions contrôlées, ni essai de fertilisation en conditions d'emploi préconisées. Aussi, des éléments de démonstration de l'efficacité de la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42 devront être communiqués.

Conclusions sur le mode d'emploi du produit

Le mode d'emploi indiqué est suffisant pour permettre une bonne utilisation du produit. L'application du produit RHIZOVITAL 42 permet d'inoculer le système racinaire des végétaux avec la souche promotrice de la croissance radiculaire. Les modalités d'application proposées sont le traitement de semences, le trempage, l'arrosage ou la pulvérisation sur la surface du sol ainsi que l'incorporation au système d'irrigation. Il est recommandé d'apporter le produit directement au contact des racines afin de maximiser son efficacité.

Le produit doit être dilué et agité avant et au cours de l'application. Par ailleurs, l'exposition du produit aux rayonnements solaires est à éviter et la bouillie appliquée immédiatement après sa préparation. Selon la décision des Autorités autrichiennes, le produit RHIZOVITAL 42 doit être conservé à l'obscurité et au frais. La température de stockage ne doit pas être supérieure à 30°C.

Le demandeur précise également que le produit peut être associé aux pesticides ou aux engrais, exceptés avec les produits à effet bactéricide et les produits cupriques.

Revendications retenues

Les éléments bibliographiques liés à l'activité des souches bactériennes PGPR permettent de soutenir les effets de la préparation RHIZOVITAL 42 liés à la stimulation de la croissance des plantes et du développement racinaire, ainsi qu'à l'augmentation du rendement.

Des éléments de démonstration de l'efficacité du produit dans les conditions d'emploi préconisées devront néanmoins être communiqués.

Par ailleurs, aucune mention relative au phénomène d'élicitation ou résistance systémique induite ainsi qu'à la réduction de l'incidence ou la gravité de diverses maladies ne devrait être faite sur l'étiquette, les emballages, les fiches techniques et commerciales.

La dénomination de classe et de type proposée est la suivante : « Préparation bactérienne » - « Inoculum liquide de *Bacillus amyloliquefaciens* sous-espèce *plantarum* souche FBZ 42 ».

CONCLUSIONS

En se fondant sur les données soumises par le pétitionnaire et évaluées dans le cadre de cette demande, ainsi que sur l'ensemble des éléments dont elle a eu connaissance, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail estime que :

A. La caractérisation de la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42 est établie de manière satisfaisante. L'homogénéité et l'invariance de la préparation sont également établies. Néanmoins, l'étude d'invariance devra être complétée par l'analyse de lots supplémentaires.

L'élément de caractérisation retenu pour le marquage obligatoire est le dénombrement des spores de l'inoculum. En outre, le genre, l'espèce et la souche du microorganisme, ainsi que la date limite d'utilisation optimale de la préparation devront être précisés sur l'étiquette.

La capacité de revivification des spores sur une période de deux ans devra être confirmée par la mise en place d'une étude de stabilité en conditions de stockage spécifiées par le demandeur (température inférieure à 30°C, dans un environnement frais et sec et à l'abri de la lumière directe du soleil).

B. L'innocuité de la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42 pour les usages demandés est considérée comme conforme aux exigences réglementaires.

Néanmoins, des informations complémentaires relatives au potentiel transfert de gène de résistance aux antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire pourront être demandées dès lors qu'un principe d'évaluation aura été finalisé et adopté au niveau européen.

Classification de la préparation bactérienne, phrases de risque et conseils de prudence

Les données disponibles permettent de considérer que le produit est non classé au sens du Règlement (CE) n° 1272/2008.

Précautions d'emploi

La mention « Contient *Bacillus amyloliquefaciens.* Les microorganismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation » devra figurer sur l'étiquette.

Port d'un masque anti-aérosol (de type EN149 FFP3 ou équivalent), de gants et vêtements de protection appropriés par l'utilisateur.

C. L'efficacité de la souche *Bacillus amyloliquefaciens* FZB 42 constituant la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42, relative à la stimulation de la croissance des plantes et du développement racinaire ainsi qu'à l'augmentation du rendement, est illustrée par les données de la littérature scientifique.

Toutefois, sur la base des éléments bibliographiques communiqués par le demandeur la démonstration de l'efficacité de la souche considérée reste limitée aux cultures légumières (concombre et salade).

En revanche, l'efficacité du produit relative à la résistance au stress abiotique n'est pas démontrée.

Des éléments de démonstration de l'efficacité du produit dans les conditions d'emploi préconisées devront être communiqués.

La dénomination de classe et de type proposée est la suivante : « Préparation bactérienne » - « Inoculum liquide de *Bacillus amyloliquefaciens* sous-espèce *plantarum* souche FBZ 42 ».

Usages et conditions d'emploi retenus

Cultures	Dose par apport (en mL d'inoculum.ha^{-1})		Nombre de germes (par ha)		Nombre d'apports par an		Epoques d'apport
	minimale	maximale	minimal	maximal	minimal	maximal	
Cultures légumières	500	2000	1,25.10^{13}	5.10^{13}	1	3	Semis Plantation Emergence

Aucune mention relative au phénomène d'élicitation ou résistance systémique induite ainsi qu'à la réduction de l'incidence ou la gravité de diverses maladies ne devrait être faite sur les supports d'information et de communication.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet un avis **favorable** à la mise sur le marché de la préparation bactérienne RHIZOVITAL 42 et propose une homologation dans les conditions d'étiquetage et d'emploi précisées ci-dessus.

Données post-autorisation

Les compléments d'information suivants devront être apportés au plus tard 6 mois avant l'échéance de l'autorisation de mise sur le marché, sauf indications contraires précisées ci-dessous :

Type	Compléments post-homologation requis
Analyses	Effectuer au moins tous les six mois, sur des échantillons représentatifs de la matière fertilisante telle qu'elle est mise sur le marché et selon les méthodes prévues par le programme COFRAC 108 ou spécifiées ci-après, des analyses portant au moins sur : - les éléments figurant sur l'étiquetage (dénombrement des spores) ; - les microorganismes totaux, Entérocoques, *Escherichia coli, Clostridium perfringens, Salmonella, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes*, Nématodes, Levures et moisissures, *Aspergillus, Pythium.* **Dans un délai de 2 ans**, compléter les données d'invariance par l'analyse de lots supplémentaires et fournir les résultats d'une étude de stabilité conduite sur une période de 2 ans dans les conditions de stockage préconisées. Les analyses doivent avoir été effectuées par un laboratoire accrédité par le COFRAC sur le programme 108 ou par un organisme équivalent (norme NF ISO 17025). Les méthodes d'analyse doivent être en priorité celles du programme 108 du COFRAC. L'emploi de toute autre méthode doit être justifié et il convient d'utiliser en priorité les méthodes normalisées ou standardisées. Le cas échéant, fournir la méthode utilisée, sa justification ainsi que les éléments nécessaires à sa validation. Dans tous les cas, les références des méthodes employées doivent être précisées.
Ecotoxicologie Environnement	**Dans un délai de 2 ans**, fournir les résultats d'une étude ou toute information pertinente permettant de renseigner l'impact du produit RHIZOVITAL 42 sur les communautés microbiennes du sol (diversité et abondance).
Efficacité	Mettre en place des essais d'efficacité dans les conditions agronomiques et pédoclimatiques françaises selon les usages et conditions d'emploi retenus et selon les différents modes d'application représentatifs des usages. Les rapports d'étude, les données brutes et l'analyse statistique des résultats de ces essais devront être communiqués **dans un délai 4 ans**.

Pour le directeur général
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
Et par délégation
Le directeur général adjoint scientifique

Gérard LASFARGUES

Marc MORTUREUX

Mots-clés : RHIZOVITAL 42 - *Bacillus amyloliquefaciens* souche FZB 42 - FUTS